

## 特集①

グライコインフォマティクス  
展開の必要性客員研究官 辻 崇一\*  
ライフサイエンス・医療ユニット 島田 純子

## 1. はじめに

グリコーゲン、でん粉、セルロースなど生体エネルギー源や細胞・組織の構築材料としての糖質は昔から知られている。それとは違った“糖”、すなわち、主に細胞表面に存在していてタンパク質や脂質に結合している糖の鎖が「糖鎖」として存在している。最近、

「糖鎖」が、核酸、タンパク質に次ぐ第3の“鎖”として脚光を浴びている。糖鎖研究に関しては本誌2002年1月号「特集：第三の生命鎖糖鎖とポストゲノム解析」<sup>1)</sup>にまとめられている。以後、プロジェクト研究も立ち上げられ、糖鎖研究が推進されている。

本稿では、糖鎖研究からより多くの成果を得るためには、現在の糖鎖研究推進施策に加えて、分子レベルでの糖鎖の機能解析を加速することを可能にする「グライコインフォマティクス」という新しい研究の推進が必要であることについて述べる。

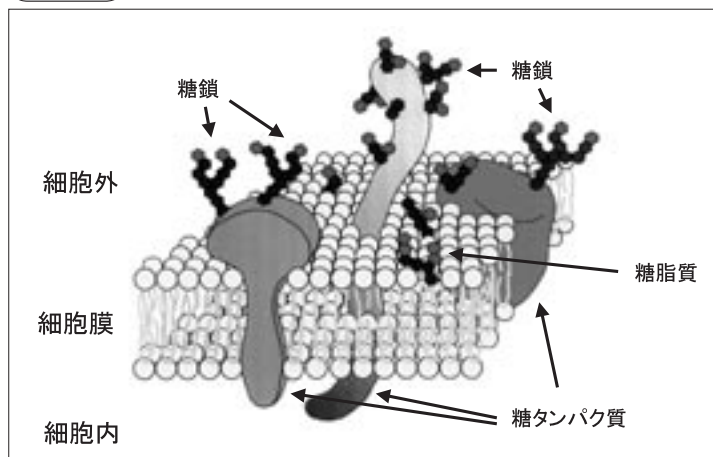
2. 糖鎖の構造的な特徴と役割<sup>1~4)</sup>

## 2 - 1

## 構造的な特徴

真核細胞では、タンパク質や脂質の多くは糖鎖を身に付けている。糖鎖の付加したタンパク質、脂質をそれぞれ糖タンパク質、糖脂質という。糖鎖の構造には、核酸やタンパク質構造とは異なった大きな特徴がある。核酸やタンパク質の場合、結合様式は基本的には1種類しか存在せず、直鎖状の構造をとる。しかし、糖鎖は構成単糖に複数の結合可能な部位が存在するため、枝分かれした構造を持つ。また、これに加えて、構成単糖、鎖の長さなどに多様性があり、非常に複雑な構造をとる。この糖鎖構造の多様性が、糖鎖機能に重要な意味を持つに違いないと考えられている。

図表1 細胞膜表面に存在する糖鎖

参考文献<sup>5)</sup>をもとに科学技術動向研究センターにて一部改変

## 2 - 2

## 役割

糖鎖の役割は大きく3つに分けて考えることが出来る。

1番目は、糖鎖の結合しているタンパク質あるいは脂質に対する、安定性の付与、溶解性の調節、

細胞内での局在性の制御、分解酵素からの保護等の作用をあげることが出来る。

2番目は、細胞間情報伝達のアンテナとしての役割である。例えば、細胞間の認識や細胞接着において重要な役割を演じていること、ウイルスや細菌が宿主に感染する時の認識の場となること、細

胞の分化の開始に関与していることなどが明らかとなっている。さらに、個体発生・形態形成・受精、がんの増殖および転移などにも関与することが知られている。しかし、これらについては、いずれも分子レベルでの解析にはほとんど至っていない。

3 番目は、個を識別する手段

としての役割である。糖鎖は生物種ごとに基本構造は維持されているがそれ以外の部位は生体により異なる。場合によっては、一生物種の中の集団ごとに異なる場合もある。例えば、ABO-型の血液型は、糖鎖の違いにより決定されている。

糖鎖の持つこれらの役割を分

子レベルで解析することができれば、感染症の予防薬の開発、感染症や免疫の制御、糖鎖を用いたがんの免疫療法への展開、(人工)臓器移植時の拒絶反応の克服、発生分化の制御など多方面にその効果は期待できる。

### 3. 糖鎖研究の現状

#### 3 - 1

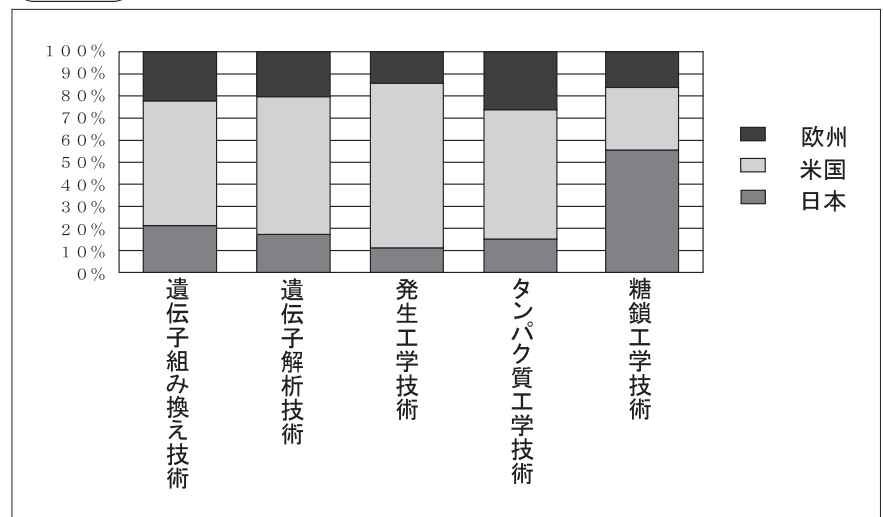
#### これまでの糖鎖研究の進展<sup>1~6)</sup>

エリスロポエチンは赤血球の産生を調節する因子として知られているが、ヒトのエリスロポエチンを遺伝子操作により、バクテリアに合成させたものは活性がない。その理由は、バクテリアに合成させたエリスロポエチンには、ヒト型の糖鎖が結合していないためであることが、1980年代後半に明らかになった。こうした研究から、「糖鎖」が、核酸、タンパク質に次ぐ第三の“鎖”として考えられるようになった。

ヒトゲノムプロジェクトの進展も寄与して、多くの糖鎖関連酵素(糖鎖を合成・分解・修飾する酵素の総称)の遺伝子クローニングが相次いで成功し、その遺伝子を用いた研究が可能になってきたことから、糖鎖研究は新しい段階に入っている。即ち、糖鎖が持つ役割を明らかにする研究が推進され始めている。

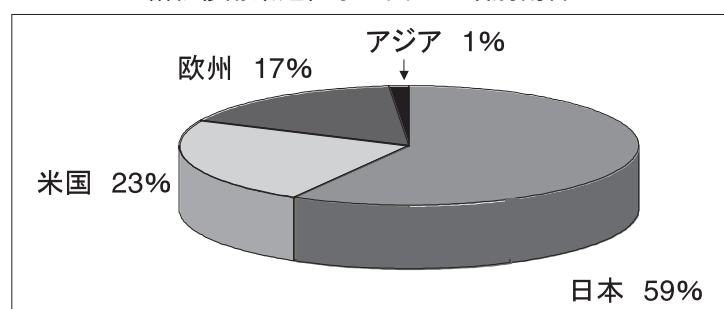
これまでの糖鎖研究の進展に対する日本の貢献は大きい。事実、糖鎖工学技術の特許出願件数において、日本の比率は、他のバイオテクノロジー基幹技術に比べて圧倒的に高く、全体の55%を日本が押さえている(図表2)。また、糖鎖合成に関与する遺伝子は少なくとも300種あると考えられており、現在これらのクローニングが

図表2 バイオテクノロジー基幹技術の技術別出願人国籍別出願比較



世界各国に出願された特許出願を分析、優先権主張年が1991 - 2000年を対象としている  
参考文献<sup>7)</sup>をもとに科学技術動向研究センターにて一部改変

図表3 現在までにクローニングされた糖転移酵素遺伝子の国・地域別割合



産業技術総合研究所糖鎖工学研究センター成松 久博士作成資料をもとに科学技術動向センターにて一部改変

国際競争になっているが、図表3に示すように、クローニングが終了している遺伝子の59%が日本の研究グループによるものである。さらに、2年に1度開かれる糖鎖関連の2大国際会議における発表者の中で日本人の占める割合が高いこともこれを裏付けている。

国際糖質化学シンポジウム(Int. Carbohydrate Symposium (Cairns, 2002))で24%、国際複合糖質シンポジウム(Int. Symposium on Glycoconjugate (Hague, 2001))で28%である。

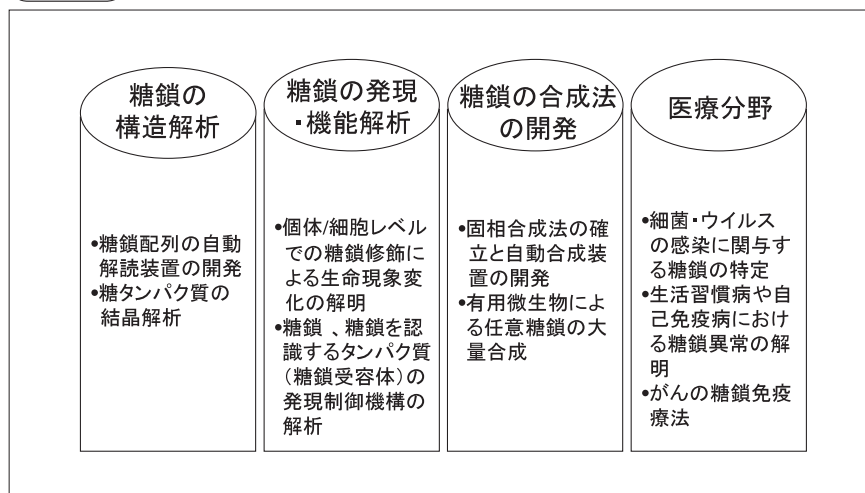
### 3 - 2

## 現在の取り組み

現行の糖鎖研究の主たる課題は図表 4 に示すように、大きく 4 つの柱からなっており、これらの研究課題が、以下のプロジェクトにおいて、推進されている。

経済産業省では、2002 年度より、「健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム」の 1 つとして、「糖鎖エンジニアリングプロジェクト（糖鎖構造解析技術開発）」を開始し、2002 年度補正予算に約 11 億円、2003 年度予算に 9 億円計上した。ここでは、従来にない革新的な糖鎖構造解析技術や糖鎖構造同定方式を樹立するシステム・装置の開発や、糖鎖同定のための標準糖鎖試料や機能解析に必要な糖タンパク質等を容易に合成するシステム・装置の開発を行うことを目的としている。

図表 4 現行のプロジェクトによる主たる研究課題



参考文献<sup>1)</sup>をもとに科学技術動向研究センターにて一部改変

文部科学省では、「糖鎖機能等を活用した新産業育成支援」が、「経済活性化のための研究開発プロジェクト（リーディングプロジェクト）」の 1 つとして推進されており、2002 年度補正予算に 10 億円が計上された。また、科学技術振興事業団（JST）の戦略的創造研究推進事業（CREST）においては、「糖鎖の構造と機能の解

明」という研究領域が設定され、2002 - 2004 年度にかけて公募された研究テーマによる基礎的研究が推進されている。

図表 4 に示した研究課題に対しては、糖鎖機能に対する関心の高まりや、質量分析計、蛍光標示式細胞分取器（FACS）など各種分析機器の発達などがあり、欧米でも積極的に取り組まれ始めている。

## 4. 糖鎖研究の課題

糖鎖研究においては、機能を持つ糖鎖を同定し、その糖鎖が何と相互作用をして、情報がどのように次へ伝えられていくのかという詳細な分子レベルでの研究が必要である。現行の糖鎖研究は、プロジェクト進行に伴い発展を見せているが、分子レベルでの解析にまではなかなか到達していないのが現状である。分子レベルでの知見がなければ、その波及効果として期待できる糖鎖機能の有効な利用法の開発は望めない。それでは、なぜ分子レベルでの糖鎖の機能解析がなかなか進まないのだろうか？ この問題に関して糖脂質と糖タンパク質、それぞれ異なった課題を抱えているが、大局的には糖脂質の課題は、糖タンパク質の課題に重なることから、糖タンパク質研究に絞って問題点を以下に

整理する。

### 4 - 1

## 構造に関する有効なデータベース構築の必要性

特定のタンパク質がどのような糖鎖を持っているかを研究するために、結合している糖鎖を切り取ってきて、糖鎖ごとに単離精製し、その構造を調べる研究が続いている。糖鎖の構造決定は、糖鎖の自動配列解析装置がまだ開発されていないこと、特定の結合だけを切る酵素をそろえる必要があること、複雑な手技を習熟する必要があることなどから、つぎ込まれる人力・経費の割には成果がなかなか伴わないことが多い。糖鎖 1 分子の構造を決めるのに数ヶ月かかることは珍しくない。通常 2 ～

10 本糖鎖が付いているので、1 つの糖タンパク質の糖鎖の構造を全て決めるのに 2 ～ 3 年掛かるのが普通である。これまでに 50 種前後とごく限られた糖タンパク質糖鎖に関するデータは蓄積され、一部データベース化されている。しかし、データの規模が小さいこと、特定の構造を持つ糖鎖の検索がほとんどできないことから、データベースとしての実用性に乏しいのが現状である。

### 4 - 2

## 糖鎖の付加している位置情報の必要性

糖鎖の構造を調べる際、結合している糖鎖をまるごと切り出し単離精製する。この時、それぞれの糖鎖がタンパク質のどの位置のア



ミノ酸に結合していたか、という位置情報が得られず、このデータの蓄積が殆どないということが問題となっている。例えば、エリスロポエチン（糖ペプチドホルモンの1つ）や、免疫不全症候群の原因タンパク質で、特定の位置のアミノ酸に適切な糖鎖が付いているか否かで、そのタンパク質の本来の機能が発現されたり、されなかったりという事例が報告されている。糖鎖がどの位置に付いているかという情報は、これから糖鎖の機能を分子レベルで研究する際にどうしても必要になってくる。

## 4 - 3

## 機能性糖鎖の同定の必要性

糖鎖は、糖鎖が関与している生命現象において、単独ではなく、糖鎖の情報を認識する別のタンパク質などと協力して機能を発揮し

ている。それら情報の受け手としての分子が、どのようにして糖鎖の情報を読み込むのかというメカニズムの解明が、糖鎖の機能研究上必須である。

ところで、糖鎖は、全てが機能を持っているのではなく、ごく限られた糖鎖が機能を持っている。現在のところ、糖鎖集団の中で、実際に「機能」に関与している糖鎖の同定が難しい場合が多い。糖鎖集団が複雑で扱いにくいいため、その中から機能性糖鎖の候補を絞り込むことさえできない場合や、1つの糖鎖が機能を担っているのではなく、複数の糖鎖が担っていて、機能性糖鎖の同定がさらに難しくなっている場合などがある。

機能性糖鎖の同定ができれば、その糖鎖を大量に合成して、糖鎖の情報を認識するタンパク質の探索をすることがはじめて可能となり、糖鎖とタンパク質分子がどの

ようにして情報のやり取りをしているのかという本来の分子レベルでの糖鎖機能解析が可能となる。

## 4 - 4

## 糖鎖研究の課題のまとめ

個々の糖鎖構造を決めるには、時間と労力を必要とすることから、糖鎖構造決定の前に、何らかの方法で機能性糖鎖の同定ならびにタンパク質上での糖鎖の結合位置の決定ができれば、直接機能に関与していない糖鎖については、単離精製や糖鎖構造決定を後回しにすることができ、経費と時間の節約が可能となる。そして、効率的に、糖鎖の構造を決め、機能解析を進めることが可能となり、研究の進展が望めることになるだろう。

## 5. グライコインフォマティクス研究の必要性

## — 糖鎖研究の課題を克服する1つの方法

前項で述べた課題を克服することができれば、すなわち、糖鎖結合位置と機能性糖鎖の同定のための方法論が確立すれば、糖鎖機能の分子レベルでの解析が進展し、糖鎖研究に大きな弾みがつくことになる。このために、「グライコインフォマティクス」という新しい研究領域に取り組む必要がある。

## 5 - 1

## グライコインフォマティクスの概念

グライコインフォマティクスとは、糖鎖構造と糖鎖機能のデータを取得、蓄積し、相互に活用しながら糖鎖の構造と機能の研究、ならびに、応用研究を推進しようというものである。この際に、バイオインフォマティクスの基盤技術を活用する。

バイオインフォマティクスは生物学、医学、行動学、健康に関するデータの取得、蓄積、体系化、データベース化、解析および可視化を含めた展開のためのコンピューターツールおよびアプローチの研究、開発または応用と定義されている<sup>8)</sup>。現在は主に、DNA、タンパク質などを対象としており、情報のデータベース化や、予測プログラムの開発などが行われており、他の生命科学分野の研究の進展に貢献している。

グライコインフォマティクスという言葉はまだ定着してはいないが、この立ち上げに向けた糖鎖に関するデータベースを構築しようという動きが見え始めている。この動きは、国内に留まらない。質量分析関係の学会抄録などを見ると、米国 The Burnham Inst. の H. Freeze らのグループなどが、糖

鎖に関する新規データベース作りを視野に入れた研究を始めていることが推測できる。

## 5 - 2

## グライコインフォマティクス展開の技術的な課題

糖鎖研究の課題克服のためには、糖鎖結合位置と機能性糖鎖同定の方法を確立し、基盤となる糖鎖に関するデータベースを整備することが必須である。細胞や個体の糖鎖の総体（グライコーム）を、細胞間や個体間で比較検討できるデータベースの整備が求められている。個々の糖鎖の精緻な構造を蓄積したデータベースは有意義であるが、糖鎖構造解析の難しさから、これには非常に時間がかかる。したがって、これに次ぐ情報として、こういった情報の集積が有効

であるかを検討することが、技術的課題である。

そこには 2 種類の課題が存在している。①蓄積する構造情報の検討、②データベースへの収納法、データベースからの情報の検索法の検討と実際の開発、データベースの運用方法の検討、という課題である。

①については、先に記したように、個々の糖鎖構造そのものを決める現行の方法では、莫大な時間と経費を必要とするため、本来の糖鎖構造そのもののデータを収容するのは現実的ではない。本来の糖鎖構造に代わるデータで、しかも、迅速、かつ微量の試料で得られる情報として何を用いれば良いのか検討が必要である。

例えば、糖タンパク質の質量分析データを活用する方法が 1 つの候補として考えられる。糖タンパク質の分析に有効であると考えられている MALDI-TOF (マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型) 質量分析装置<sup>①</sup>を用いると、タンパク質側の糖鎖結合位置情報と、糖鎖の分子量、構成単糖の配列情報を得ることが出来る。ただし、質量分析計を用いると、糖鎖を構成する単糖の異性体の区別ができないので、これらの異性体を区別する付加的な情報が必要である。この例として、糖鎖の異性体構造までも区別し、糖鎖構造により異なった力で結合するタンパク質 (レクチン<sup>②</sup>、糖鎖に対する抗体、糖鎖を合成あるいは切断する酵素など) を複数用い、それぞれのタンパク質と糖鎖との親和性の比較から、「異性体」情報に相当する情報を得ることは可能である。

②に関しては、技術的な困難さと言うよりも、今まで取り組まれていないことが問題である。情報科学者の参加を仰ぎ検討していくことが必要である。

### 5 - 3

## グライコインフォマティクスの効用

グライコインフォマティクスが立ち上がり、基盤となるべきデータベースが充実するにつれ、糖鎖の構造情報、機能情報が上手く活用できるようになる。そうすれば、分子レベルでの糖鎖機能解析が発展することとなり、図表 4 に示した既存のプロジェクト研究に大きな弾みがつくことになる。

その波及効果として、感染症 (予防) 薬剤の開発、感染症や免疫の制御、がんの糖鎖免疫療法、(人工) 臓器移植の拒絶反応の克服、発生分化の制御、糖鎖認識人工受容体の創生などが可能となる。また、別の応用例として、個人のグライコーム (糖鎖の総体) の情報を蓄積し、経時的に追跡することが可

能になれば、今までと異なった個人の健康状態の監視が可能となる。がん化、老化や発生分化などの各過程で糖鎖はダイナミックに変化していくことは事実で、個人のグライコームデータを経時的に追跡することにより、がんの発見や転移の状態の把握、あるいは老化の進み具合など健康状態の新しいモニターができることにもなる。

### 5 - 4

## グライコインフォマティクス展開の方策

実際に、グライコインフォマティクスを立ち上げ、展開を図るためには、以下の 2 期に分けて考える必要がある。

### (1) 第 1 期：方法論の確立

糖鎖の構造情報を獲得するための質量分析計の改造、集積すべき

### 用語説明

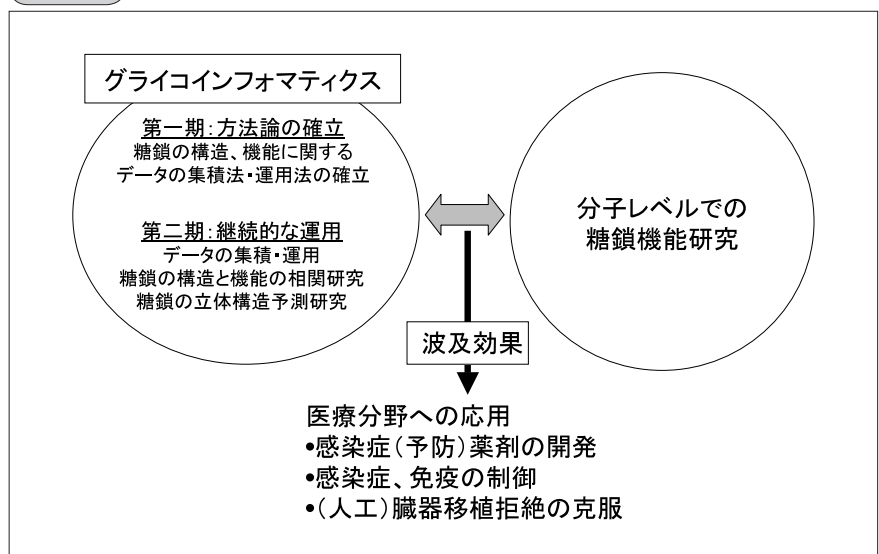
#### ① MALDI-TOF (マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型) 質量分析装置

このイオン化法は、島津製作所の田中耕一氏らにより開発された技術であり、これにより、生体高分子の質量分析が可能となった。2002 年ノーベル化学賞の受賞理由となった技術である。

#### ②レクチン

1888 年 Stillmark がヒマの実の抽出液が種々の動物の血球を凝集させることから発見されたタンパク質。糖鎖の特異的な構造を認識するタンパク質群の総称。

図表 5 グライコインフォマティクスとその役割



科学技術動向研究センターにて作成

データの検討、データベースへの集積法の検討を行う。最終的に、糖鎖の構造と機能を相互に検索利用のできるデータベースの構築を目指す。

これには、糖鎖研究者をはじめとする異分野の研究者が一堂に会して、問題点を整理検討し、有効な方法を模索しながら基礎的な立

ち上げを行うことが必要で、一極集中型のプロジェクトを組む必要がある。5年から8年の時限とし、40～50人の研究者が参画することが必要であると考えられる。

## (2)第2期：継続的な運用

実際にデータを集積し、運用しながら活用していく。DNAの塩基配列

情報は日本DNAデータバンク(DNA Data Bank of Japan; DDBJ)がデータの集積、運用を行っているように、糖鎖の構造情報、機能情報に関してデータの集積、運用を管理するデータベース管理機関を設立し運営をしていくことを検討する必要がある。

## 6. おわりに

ポストゲノム時代となり、今後の糖鎖研究は、分子レベルでの機能解析に向けた、次の新しい段階に入ろうとしている。そういった状況において、「グライコインフォマティクス」という新しい研究を推進することが必要である。グライコインフォマティクスは、分子レベルでの糖鎖の機能解析を加速することを可能にするであろう。

これに取り組むに当たって重要なことは、細胞や個体の糖鎖の一部ではなく、総体(グライコーム)をとらえることである。精緻なデータより、網羅的なデータを得て、これを比較検討できるインフォマティクスならびにデータベース

が、分子レベルでの解析に寄与するのである。

これまでの糖鎖研究を振り返って見ると、日本のポテンシャルは高く、世界をリードしてきた。このポテンシャルを生かすためには、「グライコインフォマティクス」に取り組み、糖鎖研究をさらに発展させるべきである。

## 参考文献

- 1) 科学技術動向 2002 年 1 月号「特集：第三の生命鎖糖鎖とポストゲノム解析」
- 2) ゲノム情報を超えた生命のふしぎ 糖鎖 第 16 回「大学と科学」公開シンポジウム講演収録集 クバプロ (2003)
- 3) 糖鎖機能(第3の生命鎖) 蛋白質核酸酵素(増刊号)(2003)
- 4) Essentials of glycobiology, Eds. By Varki, A. et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1999)
- 5) 細胞工学 vol.15 No. 6 特集 糖鎖は生物の機能をどう決めているか(辻 崇一監修)(1996)
- 6) Handbook of Glycosyltransferases and related genes, Eds. by Taniguchi, N., et al., Springer-Verlag, Tokyo 2002.
- 7) ライフサイエンスに関する特許出願技術動向調査報告(特許庁総務部技術調査課、2003 年 4 月 24 日)
- 8) バイオインフォマティクス 菅原英明編 共立出版(2002)

.....